

谢蓓莉,刘明旺,温伟,等. 基于数据挖掘的血管再狭窄动物模型分析 [J]. 中国比较医学杂志, 2025, 35(2): 33-44.
Xie BL, Liu MW, Wen W, et al. Vascular restenosis animal model based on data mining [J]. Chin J Comp Med, 2025, 35(2): 33-44.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2025.02.004

基于数据挖掘的血管再狭窄动物模型分析

谢蓓莉¹, 刘明旺¹, 温伟¹, 闫宇新³, 郜梦洁³, 蒋璐莲³, 金之蝶¹, 赵福海^{1,2*}

(1. 中国中医科学院西苑医院, 北京 100091; 2. 国家中医心血管病临床医学中心, 北京 100091;
3. 北京中医药大学, 北京 100029)

【摘要】 目的 对近十年血管再狭窄动物模型的造模方法和评价手段等进行分析统计, 为完善血管再狭窄动物模型提供参考。方法 检索 2013 年~2023 年中英文主流数据库中的血管再狭窄相关文献, 提取纳入文献中的实验动物品系、造模方式、造模周期以及检测方式等数据, 通过 Excel 建立数据库进行汇总分析。结果 纳入符合标准的 122 篇文献中, 实验动物品系以大鼠、兔和猪为主, 性别以雄性为主, 最常用的造模方式为球囊拉伤术, 造模周期主要在 4~8 周之内, 检测指标以组织病理学为主, 占 37.18%, 包括常规苏木精-伊红染色、Masson 染色、EVG 染色等。结论 目前猪的血管再狭窄模型翻译转化性较符合预期, 但成本较高, 难以推广, 使用大鼠和兔仍占主流, 造模方式以球囊拉伤术为主, 不同血管再狭窄动物模型和造模方式各有利弊, 应根据实验目的进行选择。血管再狭窄动物模型仍有一定局限性, 未来寻求更理想的动物模型势在必行。

【关键词】 血管再狭窄; 动物模型; 数据挖掘; 球囊拉伤

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2025) 02-0033-12

Vascular restenosis animal model based on data mining

XIE Beili¹, LIU Mingwang¹, WEN Wei¹, YAN Yuxin³, GAO Mengjie³, JIANG Lulian³, JIN Zhidie¹, ZHAO Fuhai^{1,2*}

(1. Xiyuan Hospital, Chinese Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100091, China.

2. National Clinical Research Center for Chinese Medicine Cardiology, Beijing 100091.

3. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029)

【Abstract】 **Objective** To analyze the modeling and evaluation method for vascular restenosis animal models in the last 10 years, to provide a reference for improving animal models of vascular restenosis. **Methods** Literature related to vascular restenosis was retrieved from mainstream Chinese and English databases from 2013 to 2023. Data on experimental animal strains, modeling method, modeling cycles, and detection method were extracted from the included literature, and a database was established using Excel for summary analysis. **Results** Among the 122 identified articles, the main experimental animals were rats, rabbits, and pigs, and most animals were male. The most common modeling method was balloon injury, and the modeling cycle was mainly within 4~8 weeks. The main detection indexes were histopathology, accounting for 37.18%, including routine hematoxylin-eosin, Masson, and

【基金项目】 中国中医科学院科技创新工程 (CI2021A00910); 国家自然科学基金 (81973674)。

【作者简介】 谢蓓莉 (1996—), 女, 在读博士研究生, 研究方向: 中西医结合心血管病。E-mail: 1941624483@qq.com

【通信作者】 赵福海 (1968—), 男, 博士, 主任医师, 研究方向: 中西医结合心血管病。E-mail: 13911134962@163.com

Elastica van Gieson (EVG) staining. **Conclusions** The translatability of porcine vascular restenosis models is currently more in line with expectations, but their cost is high and they are unpopular, and rats and rabbits thus remain the main animal models. Balloon injury is the main mode of modeling. Different animal models and modeling method for vascular restenosis have advantages and disadvantages, and the model should be selected according to the experimental purpose. Animal models of vascular restenosis still have some limitations, however, and better animal models are required in the future.

【Keywords】 vascular restenosis; animal model; data mining; balloon strain

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

随着冠心病发病率日益攀升,经皮冠状动脉腔介入治疗(percutaneous coronary intervention, PCI)手术量逐年递增,数据表明全球每年完成的 PCI 治疗约为 170 万例^[1]。PCI 手术提高了冠心病患者的生活质量和生存率,但血管内再狭窄(vascular restenosis, VR)作为介入治疗术后最常见的一种并发症,随着 PCI 的普及逐渐成为一个具有重要意义的临床公共卫生问题。目前 VR 发生机制尚未明确,临床上仍缺乏有效的防治手段,对其发病机制和治疗药物进行深入研究和探索迫在眉睫,而 VR 相关机制和药效学探索都离不开 VR 动物模型的构建,目前尚无公认的 VR 模型,这给研究带来了挑战。本研究采用数据挖掘的方式,汇总近十年 VR 动物造模及评价方法,从动物品系、动物性别、造模方式、造模周期和检测指标等多方面对 VR 动物模型进行综合分析,总结和探索 VR 动物模型的研究现状及不足,以期对 VR 动物模型规范化应用提供参考和指导。

1 资料和方法

1.1 数据来源

在中国知网、万方、维普中文期刊服务平台、中国生物医学文献数据库,以“支架内再狭窄 or VR or PCI 术后再狭窄 or 球囊术后再狭窄 or 血管成形术后 or 血管重构 or 内膜增生”+“动物模型”为主题词进行检索; PubMed 中以“*In-stent restenosis OR VR OR restenosis after PCI OR restenosis after balloon angioplasty OR vascular remodeling OR intimal hyperplasia*” AND “*animal model*”为主题词进行检索。检索时间均限为 2013 年 1 月 1 日至 2023 年 12 月 31 日。

1.2 文献筛选标准

纳入标准:使用动物模型进行 VR 研究的实验性研究文献;排除标准:(1)综述类、Meta 分析、

会议论文、学位论文;(2)未明确记录动物品系、造模方式和测量指标的文献;(3)若文献重复发表仅提取其中一篇;(4)出现数据错误、前后不对应或存在脱漏的文献。

1.3 数据处理及分析

提取纳入研究中的动物品系、造模方式、造模周期、检测指标等数据,通过 Excel 软件建立 VR 动物模型数据库,并参照《实验动物与动物实验技术》进行规范,为保证数据的准确性和可靠性,采取双人独立录入的方法。

2 结果

2.1 文献筛选结果

共检索出 478 篇文献,包括中国知网 212 篇、万方 65 篇、维普 74 篇、Sinomed 65 篇、PubMed 62 篇,剔除重复文献 120 篇,根据纳排标准剔除文献 234 篇,最终纳入文献 122 篇。其中英文文献 50 篇,中文文献 72 篇。

2.2 动物品系应用情况

将录入的 122 篇实验文献中实验动物分类统计,整理得出 20 个品系,累计频数 123 次(其中 1 篇有两种 VR 动物模型)。从统计结果看 VR 动物模型动物主体为大鼠、猪与实验兔,其中造模使用最多的动物是 SD 大鼠(40 次,32.52%),其余依次为(使用占比超过 5%)猪(32 次,26.02%)、新西兰白兔(18 次,14.63%)、Wistar 大鼠(12 次,9.76%)及 C57BL/6J 小鼠(9 次,7.31%)。详见表 1。

2.2 造模方法

2.2.1 造模位置

在造模位置的选择上,所选动脉主要以颈总动脉、冠状动脉、腹主动脉、髂动脉和股动脉为主,分别占比 38.52%、23.77%、10.66%、8.20%和 7.38%(见表 2)。

表 1 VR 模型动物品系和性别分布
Table 1 VR model animal strain and sex distribution

造模动物 Molding method	品系 Animal strain	性别 Sex	占比/% Percentage
		雄 Male	28.46
	SD 大鼠	雌雄各半 Half male and half female	0.81
	SD rats	雌雄不限 Either gender	0.81
		未知 Unknown	1.62
大鼠 Rats	Wistar 大鼠	雄 Male	8.13
	Wistar rats	未知 Unknown	1.62
	ApoE ^{-/-} 大鼠	未知 Unknown	0.81
	ApoE ^{-/-} rats		
	NRF2 ^{-/-} 、NF-κB ^{-/-} 突变型大鼠 NRF2 ^{-/-} , NF-κB ^{-/-} mutant rats	雄 Male	0.81
兔 Rabbit	新西兰大白兔 New Zealand white rabbit	雄 Male	9.76
		雌 Female	0.81
		雌雄各半 Half male and half female	0.81
	日本大耳白兔 Japanese white rabbits	雌雄不限 Either gender	0.81
		未知 Unknown	2.43
		雄 Male	2.43
猪 Pig	微型猪 Minipig	雌雄不限 Either gender	0.81
		空白 Unknown	2.43
		雄 Male	1.62
	小型猪 Miniature pig	雌雄不限 Either gender	2.43
		空白 Unknown	0.81
		雄 Male	2.43
		雌 Female	1.62
	大中型猪 Large and medium-sized pig	雌雄各半 Half male and half female	1.62
		雌雄不限 Either gender	2.43
		空白 Unknown	3.25
雄 Male		3.25	
去势猪 Castrated pig	未知猪 Unknown pig	雄 Male	1.62
	C57BL/6J 小鼠	雄 Male	4.88
	C57BL/6J mice	雌雄不限 Either gender	0.81
		空白 Unknown	1.62
	ApoE ^{-/-} 小鼠	雄 Male	0.81
小鼠 Mice	ApoE ^{-/-} mice		
	Tnfsf12 ^{-/-} 小鼠	雄 Male	0.81
	Tnfsf12 ^{-/-} mice		
犬 Dog	比格犬 Beagle dog	雄 Male	0.81
		雌 Female	0.81
	SD 犬	雄 Male	0.81
	SD dog		
	家犬 Domestic dog	雄 Male	0.81

2.2.2 造模方法分类

在纳入的文献中,大鼠、兔使用球囊损伤造模较多,小鼠以导丝损伤多见,支架植入则主要在猪模型上实现。具体见表 3。

2.3 检测指标

将录入的 122 篇文献中的全部指标依据检测方法分类统计,其中同一组织被不同方法检测不同指标,如所取组织既做生化检测又做病理检测,则分别进行统计,若被一种检测方法同时检测多个指标,则归为 1 类统计^[2]。统计结果表明,122 篇实验文献主要包含 9 种指标类型(频数>5 次),累计频数 277 次,应用较多的是组织病理学检测(103 次,37.18%)、免疫组化(40 次,14.44%)等,具体检测指标分布情况见表 4。

2.4 模型应用分析

现阶段 VR 模型主要应用于药效验证及机制研究两个方向,录入的 122 篇实验研究中,研究方向主要有机制研究 37 篇、药效验证 37 篇、器械研究 21 篇、模型构建 11 篇。VR 模型实际研究中的应用占比见表 5。

表 2 造模位置统计

Table 2 Modelling position statistics

动脉 Artery	频数/n Frequency	占比/% Percentage
颈动脉 Carotid artery	9	7.34
颈总动脉 Common carotid artery	47	38.52
髂动脉 Iliac artery	10	8.20
髂总动脉 Common iliac artery	1	0.82
胸腹主动脉 Thoracoabdominal aortic	1	0.82
胸主动脉 Thoracic aorta	2	1.60
腹主动脉 Abdominal aortic	13	10.66
股动脉 Femoral artery	9	7.38
股总动脉 Common femoral artery	1	0.82
冠状动脉 Coronary artery	29	23.77

表 3 造模方法汇总

Table 3 Summary of molding methods

品系 Animal strain	方法 Method	造模周期/周 Molding cycle/week	占比/% Percentage
	球囊损伤 Balloon injury	1~8	31.81
SD 大鼠 SD rats	球囊损伤+高脂饲养+再次球囊扩张损伤 Balloon injury + high fat feeding + balloon dilatation injury again	4	1.81
	导丝拉伤(钢丝、外科缝合线方法类同) Guidewire strain (steel wire, surgical suture method similar)	2~4	2.72
Wistar 大鼠 Wistar rats	球囊损伤 Balloon injury 大剂量 VitD3 灌胃+高脂饲料+球囊损伤 High dose VitD3 by gastric perfusion+ high fat diet + balloon injury	2~6 24	9.09 0.90
ApoE2 ^{-/-} 大鼠 ApoE2 ^{-/-} rats	支架植入 Stent implantation 支架植入+高脂 Stent implantation + high fat feeding	4 4	0.90 0.90
NRF2 ^{-/-} 、NF-κB ^{-/-} 突变型大鼠 NRF2 ^{-/-} , NF-κB ^{-/-} mutant rats	针灸针损伤 Acupuncture needle injury	4	0.90
C57BL/6J 小鼠、ApoE ^{-/-} 小鼠、Tnfsf12 ^{-/-} 小鼠 C57BL/6J mice, ApoE ^{-/-} mice, Tnfsf12 ^{-/-} mice	导丝损伤 Guidewire damage	2~5	10.00
比格犬 Beagle dog	血管结扎 Vessel ligation	4	0.90
SD 犬 SD dog	球囊损伤 Balloon injury 冠状动脉过度扩张 Coronary artery restenosis model with over-dilatation	8 4	0.90 0.90

续表3

品系 Animal strain	方法 Method	造模周期/周 Molding cycle/week	占比/% Percentage
家犬 Domestic dog	支架植入 Stent implantation	8	0.90
新西兰大白兔 New Zealand white rabbit	球囊损伤 Balloon injury	1~8	6.36
	球囊损伤+高脂饲养+再次球囊扩张 Balloon injury + high fat feeding + balloon dilatation	8~12	2.73
	球囊损伤+再次球囊扩张 Balloon injury + balloon dilatation	4~8	1.81
	支架植入 Stent implantation	4	5.45
日本大耳白兔 Japanese white rabbits	球囊损伤 Balloon injury	4	1.81
	球囊损伤+高脂饲养+支架植入 Balloon injury + high fat feeding + stent implantation	4	0.90
	支架植入 Stent implantation	8	0.90
大中型猪 Large and medium-sized pig	血管内膜热空气损伤法 Intima thermal air injury	8	0.90
	支架植入+再次球囊扩张 Stent implantation + balloon dilatation	4	0.90
	支架植入 Stent implantation	4	10.91
	冠状动脉过度扩张 Coronary artery restenosis model with over-dilatation	1	0.90
小型猪 Miniature pig	支架植入 Stent implantation	4~24	4.55
微型猪 Minipig	支架植入 Stent implantation	4~24	4.55
	支架植入+高脂 Stent implantation + high fat feeding	24	0.90
去势猪 Castrated pig	支架植入 Stent implantation	4	3.63

表 4 检测指标汇总(频数>5 次)
Table 4 Distribution of test indicators (frequency>5 times)

检测指标 Indicators	检测方法 Detection method	占比/% Percentage	检测内容 Specific test content
组织病理 Histopathological examination	苏木精-伊红(HE)染色 Hematoxylin-eosin (HE) staining	37.18	新生内膜增生面积;以内弹力膜与内膜面之间组织为新生内膜,测量指标包括:(1)管腔面积(lumen area, LA);(2)内膜面积(intimal area, IA);内弹力膜包绕面积和 LA 的差;(3)中膜面积(media area, MA);即外弹力膜包绕面积和内弹力膜包绕面积的差;(4)WA:IA 与 MA 的和;(5)内膜增生指数(intima hyperplasia index, IHI),即 IA/WA;(6)狭窄率:IA/内弹力膜包绕面积×100%;损伤评分、炎症积分等。
	Masson 大体染色 Masson gross staining		Area of neointimal hyperplasia; neointima was defined as the tissue between the inner elastic membrane and the intima surface. Measurement indexes included: (1) lumen area (LA); (2) intimal area (IA); Difference between the area enclosed by the internal elastic membrane and LA; (3) media area (MA); difference between the area surrounded by the external elastic membrane and the area surrounded by the internal elastic membrane; (4) WA: sum of IA and MA; (5) intima hyperplasia index (IHI), IA/WA; (6) stenosis rate: IA/area surrounded by the internal elastic membrane ×100%; injury score, inflammation score, etc.
	EVG 染色 EVG staining		

续表4

检测指标 Indicators	检测方法 Detection method	占比/% Percentage	检测内容 Specific test content
生化指标 Biochemical indexes	酶联免疫吸附试验 (ELISA) Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)	6.49	血清低密度脂蛋白胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇、极低密度脂蛋白胆固醇、总胆固醇和三酰甘油浓度等。 Serum LDL cholesterol, HDL cholesterol, VLDL cholesterol, total cholesterol and triglyceride concentrations.
	蛋白质印迹 Western blot	7.58	
基因蛋白表达 Gene protein expression	聚合酶链式反应 (PCR) Polymerase chain reaction (PCR)	5.05	PCNA、 α -SMA、ICAM-1、IL-1 β 和 IL-18、NLRP3、Caspase-1、Ki-67、CD47、SMMHC、OPN、MMP-2、VEGF、SDF-1、EGF、bFGF 和 MMP-9 等因子的表达。
	酶联免疫吸附试验 ELISA 免疫组化	5.78	Expression of PCNA, α -SMA, ICAM-1, IL-1 β and IL-18, NLRP3, Caspase-1, Ki-67, CD47, SMMHC, OPN, MMP-2, VEGF, SDF-1, EGF, bFGF and MMP-9, etc.
	免疫组化 Immunohistochemical	14.44	
	免疫荧光 Immunofluorescence	5.05	
影像学检查 Imageological examination	血管光学相干断层成像技术 (OCT) Optical coherence tomography (OCT)	6.86	测量指标: (1) 最小管腔直径 (mm): 测量支架内最狭窄处血管的直径; (2) 新生内膜厚度 (mm): 测量支架每个金属丝到达血管内膜的垂直距离, 取其平均值; (3) 新生内膜面积 (mm ²): 以支架为外边界, 以内膜为内边界, 测量其间的总面积, 即支架内膜增生的面积; (4) 管腔面积 (mm ²): 血管腔的实际面积, 边界为血管内膜; (5) 支架面积 (mm ²): 以支架为边界, 测定所包含的面积; (6) 狭窄程度/% = 新生内膜面积/支架面积 \times 100%。 Measurement indicators: (1) minimum lumen diameter (mm): measure the diameter of the stenotic vessel in the stent; (2) neointima thickness (mm): measure the vertical distance from each metal wire of the stent to the intima, and take the average value; (3) neointima area (mm ²): take the stent as the outer boundary and the intima as the inner boundary, measure the total area between them, i. e. the area of intima hyperplasia of the stent; (4) lumen area (mm ²): actual area of the vessel lumen, and the boundary is the intima; (5) stent area (mm ²): determine the included area with stent as boundary; (6) stenosis degree/% = neointima area/stent area \times 100%.
	数字减影血管造影 (DSA) Digital subtraction angiography (DSA)	8.30	检查内容: ① 支架输送的性能: 顺应性、可视性及定位准确性; ② 有无急性、亚急性或延迟血栓形成; ③ 支架段直径变化; ④ 支架内再狭窄率: 管腔直径 < 50% 为再狭窄。 Examination contents: ① stent delivery performance: compliance, visibility and positioning accuracy; ② whether there is acute, subacute or delayed thrombosis; ③ diameter change of stent segment; ④ restenosis rate in stent: lumen diameter < 50% is restenosis.
	定量冠状动脉造影 (QCA) Quantitative coronary angiography (QCA)	3.25	检查内容: 基线血管直径 (mm)、置入后即刻最小管腔直径 (mm)、复查时参考血管直径 (mm)、复查时最小管腔直径 (mm)。 管腔丢失/mm = 置入后即刻最小管腔直径/mm - 复查时最小管腔直径/mm Examination contents: baseline vessel diameter (mm), minimum lumen diameter immediately after implantation (mm), reference vessel diameter at reexamination (mm), minimum lumen diameter at reexamination (mm). Lumen loss/mm = minimum lumen diameter immediately after placement/mm - minimum lumen diameter at review/mm

表 5 模型应用统计

研究类型 Study type	频数/ <i>n</i> Frequency	占比/% Percentage
机制研究 Mechanism study	37	30.33
药效学研究 Pharmacodynamic study	37	30.33
器械研究 Device study	21	17.21
模型研究 Model study	11	9.02
诊断研究 Diagnosis study	5	4.09
病理研究 Pathological study	2	1.64
其他 Other	9	7.38

3 讨论和分析

PCI 在冠心病, 尤其急性心梗的治疗上有不可替代的优势, 已成为冠心病治疗的主流手段^[3], 同时不可忽略的是 PCI 术后并发症, 其中最主要的 VR 受到临床广泛关注, 再狭窄是指在血管成形术或支架植入后, 血管重新狭窄或闭塞的现象^[4]。VR 发病机制复杂, 尚无疗效令人满意的治疗手段, 明确 VR 发病机制以及优化治疗手段迫在眉睫。

VR 动物模型在心血管疾病研究中具有重要意义, 能模拟 VR 发生的病理过程, 对于研究再狭窄的机制、评估新的治疗策略和支架设计至关重要, 且符合伦理和实用性的考虑, 但目前并没有公认的 VR 模型。本研究通过对近十年国内外涉及 VR 动物模型研究的文献进行汇总分析发现:

3.1 动物选择

通过数据挖掘发现, VR 动物模型主要选择大鼠、猪和兔 3 种动物品系, 分别占 43.90%、26.02% 和 17.89%。这 3 种动物品系在 VR 模型构建中各有利弊。大鼠的优势在于易于获取和饲养, 且大鼠的颈动脉只有中膜和外膜, 无内膜结构, 内弹力板上覆盖的只是单层的内皮细胞, 结构较为简单, 便于后续分析, 同时管腔直径较小鼠大, 便于进行球囊拉伤和支架植入等手术操作, 是较为常用的 VR 动物模型, 再现性高^[5]。研究发现大鼠在手术剥蚀内皮后几天内即可检测

到富含血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cell, VSMC) 的新内膜形成, 并在 21 d 时达到最大化并且稳定^[6]。但不能忽略的是, 大鼠缺乏血浆胆固醇酯转移蛋白 (cholesterol ester transfer protein, CETP), 胆固醇由 HDL 而不是 LDL 运输, 脂质代谢与人类相差较大, 具有较高的动脉粥样硬化抗性^[7]。且大鼠的血管损伤反应也明显不同于人类, 只有稀疏的血栓形成和纤维蛋白沉积、炎症较轻和缺乏重塑^[8]。这些都是 VR 动物模型选择大鼠造模时需考虑的局限性。

支架性能等研究主要在猪模型上实现, 猪除体积较大、方便植入支架和进行造影等检测外, 还具有与人类高度相似的心血管系统生理结构, 且产生 AS 病变的位置分布也相似。此外, 脂质代谢方式和局部血流动力学也与人类类似^[9-10]。有实验证明, 猪主动脉经球囊扩张、支架植入后会在细胞大小、密度和组织病理学方面产生与人类再狭窄后几乎相同的新内膜反应, 且增生程度与损伤程度成正比, 这表明猪的 VR 模型在再狭窄的研究上具有极高的价值^[11]。因此使用猪构建的 VR 模型目前较被认可, 但由于成本高以及“3R 原则”(替代、减少和优化)的要求, 难以推广, 此外, 既往研究发现使用猪模型获得积极结果的研究较少, 因此模型敏感性不太确定^[12]。

选择兔进行 VR 造模在以上两种动物之间取得了相对的平衡。兔的脂质代谢与人类相似, 都具有很高的 CETP 活性, 通过 LDL 和 VLDL 运输大部分胆固醇, 且兔的胆汁酸排泄量同人类一样较低, 这些特性使其容易受到高脂饮食影响^[13], 而从临床血管成形术模拟角度来看, 兔血管尺寸的吻合度也更高, 这使得兔的 VR 模型成为了啮齿动物和大型动物之间的一座桥梁。研究发现球囊损伤与高脂饮食相结合的兔 VR 模型约在 6~10 周出现管腔狭窄病变, 与人类非常相似, 并且可以在组织学和分子水平上检测到新内膜的形成^[14]。但兔与人类的重要差异在于兔完全缺失 ApoA-II 和肝脂肪酶合成, 兔的 AS 病变以富含泡沫细胞的病变为主^[15]。此外兔的群居性差, 疾病发生率高, 因此需要投入的成本也更高。

其他常用的还有小鼠模型和比格犬, 小鼠模型的优势在于基因操作过程简单, 对基于分子、细胞水平的基础研究更为有利^[16], 但血管较细,

不便于操作,且存在同大鼠一样的生理局限性。犬虽然血管大小、饲养成本等较为合适,但天生对动脉粥样硬化和新内膜增生的发展具有较高的抵抗力,这使得犬在 VR 模型中翻译转化性较差^[17]。

在性别选择上,VR 动物模型以雄性为主,这是由于雌性性激素具有独特的 AS 保护特性,雌激素会影响脂质代谢、纤维蛋白原和一氧化氮合酶水平,从而影响血管的损伤反应^[18]。KUNIO 等^[19]通过对 164 头接受 PCI 干预的尤卡坦迷你猪的汇总数据进行 Meta 分析发现性别差异对血栓形成、新内膜形成或管腔闭塞方面并没有显著影响,但对纤维蛋白沉积清除率和炎症消退存在一定程度的干扰。且雄性体积能长得更大,更适宜手术操作,故在 VR 造模中多选择雄性。

对选择损伤的动脉进行统计分析发现,建立再狭窄模型选用的血管主要为颈总动脉、髂总动脉、胸主动脉、冠状动脉等。这些动脉都直径较粗,分布表浅,且血管分支较少,易于分离和损伤。造模动脉的选择除了要便于手术操作之外,还要为研究目的服务,如大鼠常选择颈动脉进行造模,大鼠的颈动脉只有中膜和外膜,无内膜结构,内弹力板上覆盖的只是单层的内皮细胞,结构较为简单,便于后续分析,尤其适宜于平滑肌增殖相关的研究,而猪则选择冠脉动脉进行支架植入造模,高度模拟人血管介入损伤过程。

3.2 造模方法

损伤方法主要有手术干预、代谢诱导和基因编辑等^[20]。常用的损伤手段包括机械损伤(球囊/导丝拉伤)或由特殊饮食、电损伤、热力、空气干燥等手段引起的损伤或通过支架植入,具体如下:

本研究分析显示球囊损伤为最常用的造模方式,具体过程为钝性分离动脉后,在动脉做一纵行切口,将直径合适球囊放入动脉血管,用压力泵控制球囊气压,反复拖拉造成动脉血管内皮细胞脱落,弹力板及中膜严重损伤,从而引起局部血管狭窄。球囊导管有效地模拟了临床血管介入治疗过程,优势在于球囊尺寸可控,能精准地控制损伤程度,具有更高的可重复性^[21],且术后动物状态好,恢复快,血栓生成率及死亡率低,适用于多种动物,包括大鼠、兔子和猪,其研究和

应用范围广^[22],在血管生物学研究、药物研发、介入医疗器械评估以及基因和细胞治疗研究等多个领域都具有重要价值,但也存在局限性,如导致的非特异性血管损伤可能与临床实际情况有所差异,对小型动物如小鼠不适用等。

导丝损伤的原理和操作与球囊损伤类似,将球囊替换为导丝(或自制钢丝、针灸针等)放入动脉进行摩擦,造成内膜剥脱,导丝摩擦所造成的损伤程度较大,能促使损伤附近的内皮细胞发生迁移、增殖以修复受损的内皮层;同时也会活化暴露于血流中、处于中膜层的平滑肌细胞^[23]。该方法在分析平滑肌细胞功能受内皮机械损伤影响的方面具有重要价值,且成本更低,适用于小鼠,而小鼠基因谱清楚,有利于进行基因修饰,这也使得导丝损伤法在相关机制研究中不可或缺,但由于该模型必须在显微镜下才能更好完成操作,设备要求较高,且效果和操作手法关联性很强,重复性较低。

支架植入高度模拟临床情况,具体过程为动脉穿刺后使用造影导管介入靶血管,造影后通过导引导管和导引导丝将支架输送到病变位置,释放支架。通过选择不同类型和大小的支架,可以精确控制血管损伤的程度,但需要专门的支架和植入设备,成本较高,同时手术要求也高,需要操作人员具有专业的手术技能,适宜支架相关研究,如研究支架的设计、材料对血管反应和再狭窄的影响,测试药物涂层支架的疗效和安全性,或研究基因和细胞治疗在预防支架植入后血管再狭窄中的应用^[24]。

冠状动脉过度扩张模型的操作方法基本同支架植入,主要采用比目标血管尺寸大 10%~30% 的超大支架进行植入,过度扩张的支架弹簧圈能损伤深部动脉,导致新内膜增生。该方法能够模拟介入治疗过程中可能出现的过度扩张情况,研究发现 VR 的原因之一即为机体对内皮剥脱和血管壁过度扩张的过度代偿反应。操作中需要精确控制扩张的压力和持续时间,以避免造成过度损伤或不足,适用于研究过度扩张对血管内皮细胞和 VSMC 的影响以及评估不同的介入治疗策略(如单药治疗、双药治疗等)对预防过度扩张后 VR 的效果^[25]。

血管结扎法即使用丝线或其他材料,对目标

血管进行结扎。此模型通过阻断血流引起管腔内剪切力改变,触发内皮细胞分泌多种细胞因子、生长因子,通过细胞串扰激活 VSMC 表型转换,最终在 2~4 周后形成新生内膜和血管重塑。这种损伤手段可重复性和可行性高,可模拟术后远期管腔修复导致的再狭窄,且有利于研究血流剪切力对 VSMC 表型的影响,但不适用于模拟临床上介入术后早期的血管损伤情况^[25]。

血管内膜热空气损伤法的具体方法为:首先用动脉夹暂时关闭动脉近心端,再结扎动脉远心端,在动脉远心端向近心端插管并在近心端剪一出气口,用恒流泵持续灌注热空气损伤内皮,最后打开动脉夹恢复血流供应。此方法直接损伤血管内膜,对中膜影响较小,更加接近血管内膜损伤、修复与增殖的过程,且损伤血管的位置、程度及时间易于控制,但由于影响因素单一,对临床介入操作的模拟效果较差,并未得到推广^[26]。

除了以上单因素损伤方法之外,多因素联合的损伤手段亦常见,如在机械损伤的基础上合并代谢损伤(高脂或大剂量维生素 D3),在球囊直接损伤动脉内皮的同时配合给予高脂饲料或腹腔注射大剂量维生素 D3(一般 70 万 U/kg)促使脂质及钙盐沉积,具有模型形成周期短、AS 斑块明显、稳定性高等优点^[27],但模型涉及多个因素的相互作用,实验复杂性和不确定性较高,且大剂量维生素 D3 可能引起钙代谢紊乱,影响动物状态^[28]。此外还有联用基因编辑(基因敲除)手段,如对 ApoE^{-/-} 鼠进行机械损伤,ApoE 是清除乳糜微粒和极低密度脂蛋白受体的配体,应用胚胎操作技术和 DNA 同源重组原理可以制备 ApoE^{-/-} 鼠,ApoE^{-/-} 鼠可随年龄增长自发或通过高脂饮食诱发形成 AS,但该模型的缺点是其胆固醇主要存在于极低密度脂蛋白,不同于人类的 LDL。且个体差异性大、价格较高(表 6)。

表 6 造模方法总结
Table 6 Summary of modeling methods

造模方法 Modeling methods	损伤手段 Damage means	损伤方法 Damage methods	机制 Mechanism	常用动物 Commonly used animal
单因素损伤法 Single-factor injury methods	球囊损伤 Balloon injury	机械损伤 Mechanical injury	机械剥脱内皮 Mechanical denudation	大鼠、兔、犬、猪 Rat, rabbit, dog, pig
	导丝损伤 Guidewire damage	机械损伤 Mechanical injury	机械剥脱内皮 Mechanical denudation	小鼠、大鼠 Mice, rat
	支架植入 Stent implantation	机械损伤 Mechanical injury	机械剥脱内皮 Mechanical denudation	犬、兔、猪 Dog, rabbit, pig
	过度扩张损伤 Overexpansion injury	机械损伤 Mechanical injury	机械剥脱内皮 Mechanical denudation	猪 Pig
	热空气损伤 Hot air damage	化学损伤 Chemical injury	氧化损伤内皮 Oxidative damage to endothelium	大鼠 Rat
多因素损伤法 Multifactorial injury methods	动脉结扎 Artery ligation	机械损伤 Mechanical injury	改变血流动力学 Altered hemodynamics	犬 Dog
	球囊损伤/导丝损伤/支架植入+高脂/大剂量 VitD3 灌胃 Balloon injury/guidewire injury/stent implantation + high fat/high dose VitD3 intragastric administration	机械损伤+代谢损伤 Mechanical damage + metabolic damage	内皮损伤反应 Endothelial injury response	大鼠、兔、犬、猪 Rat, rabbit, dog, pig
	基因突变动物+球囊损伤/高脂 Mutation animals + balloon injury/hyperlipidemia	基因编辑+机械损伤/代谢损伤 Gene editing + mechanical damage/metabolic damage	脂质浸润+内皮损伤 Lipid infiltration + endothelial damage	小鼠、大鼠 Mice, rat

而从建模方法上来看,主要有一、二次损伤法两类,又称为单一模型和双重模型。一次损伤法是指进行单一的损伤手段;二次损伤法,是为了更好地模拟人类血管病变过程,在一次损伤前后增强病变程度或重现需要进行 PCI 术的血管条件进行补充损伤。如本研究发现在双重模型中球囊损伤+高脂饲养+再次球囊扩张损伤较为常用,通过内皮损伤加高脂喂养,在 AS 形成后再行血管成形术,造成 VR 模型,更符合临床实际,但上述过程复杂,周期长,影响因素多,存在很多不完善因素,且尚未发现其造模效果优于一次损伤法,故并未被临床推广使用。

3.3 评价方法

本研究中涉及多种 VR 评价方法,以病理学观察最为多见,通过 HE 染色、Masson 染色等进行定量/半定量分析,可计算新生内膜增生面积、管腔狭窄程度等,并计算出损伤评分、炎症评分和内皮化等评分。新生内膜增生是 VR 形成的关键,而炎症是新内膜增厚的有力和直接刺激,研究表明支架涂层和药物释放聚合物会引发不同程度的炎症^[29],而不同动物模型中机械损伤也是新内膜增生的原因之一,炎症情况和损伤程度与新内膜增生成正比^[30],故 VR 研究中衍生出了这几种评分并用于血管狭窄评价。

同时,目前用于临床诊疗中的多种检测技术也已应用于临床前模型,主要为冠状动脉内成像技术,包括 DSA、血管内超声(intravenous ultrasound, IVUS)、OCT、QCA 等,可以直观、定量地评价血管内再狭窄的狭窄情况以及病变性质^[10],但这些主要在大中型动物上进行,成本较高。

统计发现,药效学研究和机制研究集中于内膜损伤和平滑肌增殖,主要测量 α -SMA、PCNA 等 VSMC 表型转换相关指标、NF- κ B 等炎症因子和 VEGFR-2、CXCR4、EGFR 和 bFGFR 等促血管修复因子相关受体及其 mRNA 的表达水平,依靠生化检测、免疫组化、Western blot、ELISA 及 PCR 等检测手段测定。

3.4 应用分布

本研究发现,VR 动物模型主要集中在机制和药效学研究。在疾病机制研究上,研究者通过构建 VR 模型探索再狭窄的病理生理学机制,包

括内皮损伤、平滑肌细胞增殖和迁移、炎症反应和血管重塑等过程。在治疗方法的研究上,动物模型极大地便利了再狭窄药物的测试和评估,包括抗血小板药物、抗凝药物以及抗增殖药物等。这些模型为开发新的治疗策略,改善患者预后提供了重要的科学依据。此外,通过 VR 临床前动物模型,还可以评估球囊/支架等器械的安全性和有效性。

综上所述,目前 VR 模型多选用 6~8 周龄的 SD 大鼠,造模动脉以颈动脉为主,球囊损伤为最常用的造模方法,造模周期多在 4 周,检测指标多选择病理组织染色,依赖损伤评分、炎症评分和内皮化等评分。而目前对于 VR 动物模型的制备还存在一些问题:①大部分文献缺乏造模成功评价。由于 VR 造模部位特殊性,许多研究仅凭文献中的经验进行造模,随后直接进入干预阶段,而未对模型的有效性进行验证,无法确定模型是否构建成功,这降低了实验结果的可靠性,无法保证干预措施的有效性和相关性。②大多数研究未设置阳性对照药物。目前,针对 VR 的治疗尚无特效药物,他汀类药物和阿司匹林等传统治疗手段的效果尚未得到明确证实,且缺乏充分的临床高级证据支持。这进一步凸显研发针对 VR 新型治疗药物的重要性。③检测仍以病理染色为主,较少有深入的机制研究,且检测指标与 AS 模型相近,缺乏特异性较高的评价指标,而影像检查技术虽然直观,但成本较高,难以推广,后续应探索兼具实用性和特异性的评价指标。④目前 VR 相关文献尚无中医证候分型,但多项临床和基础研究已证实中西医结合治疗 VR 疗效显著,因此构建相关证候的 VR 动物模型对于进一步验证中医治疗疗效和机理至关重要。

4 结论和展望

本研究总结归纳了 VR 造模常用动物品系、造模手术、造模周期及检测指标等,为 VR 动物模型规范化造模提供一定参考。不同的损伤模型都有各自优缺点,选择合适的模型需要了解实验动物从血管形态到细胞和分子特征的生物学特性,以及损伤手段的基本原理,最终根据实验目的进行选择。总体而言,现有的 VR 动物模型仍存在诸多问题,研究和开发更为精确、再现性更

强的 VR 动物模型迫在眉睫。

参考文献:

- [1] KIREYEV D, YUN E C, PAGE B J, et al. Medical therapy in acute coronary syndromes: which medicines and at what doses? [J]. *Curr Cardiol Rep*, 2009, 11(4): 267-275.
- [2] 赵日开, 杨卉妍, 刘莹, 等. 基于数据挖掘的角膜新生血管动物模型应用特点分析 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2024, 30(9): 166-173.
- ZHAO R K, YANG H Y, LIU Y, et al. Application of animal models of corneal neovascularization based on data mining [J]. *Chin J Exp Tradit Med Formulae*, 2024, 30(9): 166-173.
- [3] 中国心血管健康与疾病报告编写组. 《中国心血管健康与疾病报告 2022》概要 [J]. *中国介入心脏病学杂志*, 2023, 31(7): 485-508.
- THE WRITING COMMITTEE OF THE REPORT ON CARDIOVASCULAR HEALTH AND DISEASES IN CHINA. Report on cardiovascular health and diseases in China 2022 [J]. *Chin J Interv Cardiol*, 2023, 31(7): 485-508.
- [4] SU C, LIU M, YAO X, et al. Vascular injury activates the ELK1/SND1/SRF pathway to promote vascular smooth muscle cell proliferative phenotype and neointimal hyperplasia [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2024, 81(1): 59.
- [5] CORNELISSEN A, SIMSEKYILMAZ S, LIEHN E, et al. Apolipoprotein E deficient rats generated *via* zinc-finger nucleases exhibit pronounced in-stent restenosis [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 18153.
- [6] EBERT M L A, SCHMIDT V F, PFAFF L, et al. Animal models of neointimal hyperplasia and restenosis: species-specific differences and implications for translational research [J]. *JACC Basic Transl Sci*, 2021, 6(11): 900-917.
- [7] RUSSELL J C, PROCTOR S D. Small animal models of cardiovascular disease: tools for the study of the roles of metabolic syndrome, dyslipidemia, and atherosclerosis [J]. *Cardiovasc Pathol*, 2006, 15(6): 318-330.
- [8] BAYES-GENIS A, KANTOR B, KEELAN P C, et al. Restenosis and hyperplasia: animal models [J]. *Curr Interv Cardiol Rep*, 2000, 2(4): 303-308.
- [9] DIXON J L, STOOPS J D, PARKER J L, et al. Dyslipidemia and vascular dysfunction in diabetic pigs fed an atherogenic diet [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999, 19(12): 2981-2992.
- [10] LEIGH PERKINS L E. Preclinical models of restenosis and their application in the evaluation of drug-eluting stent systems [J]. *Vet Pathol*, 2010, 47(1): 58-76.
- [11] TOUCHARD A G, SCHWARTZ R S. Preclinical restenosis models: challenges and successes [J]. *Toxicol Pathol*, 2006, 34(1): 11-18.
- [12] SCHWARTZ R S, CHRONOS N A, VIRMANI R. Preclinical restenosis models and drug-eluting stents: still important, still much to learn [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2004, 44(7): 1373-1385.
- [13] KADOGLOU N P E, STASINOPOULOU M, GIANNAKOPOULOS T, et al. Carotid stent restenosis and thrombosis in rabbits: the effect of antiplatelet agents [J]. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, 2020, 25(6): 570-577.
- [14] JAIN M, FROBERT A, VALENTIN J, et al. The rabbit model of accelerated atherosclerosis: a methodological perspective of the iliac artery balloon injury [J]. *J Vis Exp*, 2017, 128: 55295.
- [15] WANG G, LUO X, ZHANG R, et al. A novel rabbit model for in-stent neoatherosclerosis [J]. *Int Heart J*, 2019, 60(5): 1154-1160.
- [16] PETERSON S M, TURNER J E, HARRINGTON A, et al. Notch2 and proteomic signatures in mouse neointimal lesion formation [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2018, 38(7): 1576-1593.
- [17] SCHWARTZ R S, EDWARDS W D, BAILEY K R, et al. Differential neointimal response to coronary artery injury in pigs and dogs. Implications for restenosis models [J]. *Arterioscler Thromb*, 1994, 14(3): 395-400.
- [18] 岳嘉, 张艳, 李金娟, 等. 丹参酮抑制去卵巢肥胖大鼠体质量及其作用机制 [J]. *中国老年学杂志*, 2024, 44(9): 2162-2166.
- YUE J, ZHANG Y, LI J J, et al. Inhibitory effect of tanshinone on body weight in ovariectomized obese rats and its mechanism [J]. *Chin J Gerontol*, 2024, 44(9): 2162-2166.
- [19] KUNIO M, WONG G, MARKHAM P M, et al. Sex differences in the outcomes of stent implantation in mini-swine model [J]. *PLoS One*, 2018, 13(1): e0192004.
- [20] 周思静, 罗诗雯, 潘永豪, 等. 球囊损伤动物模型建立与运用的研究进展 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2022, 30(12): 1098-1104.
- ZHOU S J, LUO S W, PAN Y H, et al. Progressing on methods of creating balloon injury animal model and its application [J]. *Chin J Arterioscler*, 2022, 30(12): 1098-1104.
- [21] 宋崇顺, 任映, 葛新, 等. 家兔颈内动脉内皮损伤引起血管狭窄模型的研究 [J]. *中国实验动物学报*, 2005, 13(2): 114-118.
- SONG C S, REN Y, GE X, et al. Rabbit model of vascular stenosis after internal carotid artery endothelial balloon injury [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2005, 13(2): 114-118.
- [22] 姚智超, 朱妍, 霍丽蓉. 血管内膜增生和再狭窄手术模型的研究进展 [J]. *实验动物科学*, 2023, 40(3): 104

- 108.
YAO Z C, ZHU Y, HUO L R. Research progress of surgical models of neointimal hyperplasia and restenosis [J]. *Lab Anim Sci*, 2023, 40(3): 104-108.
- [23] 谷佳, 贺卫和, 张银羽, 等. 雷公藤红素通过调节血管平滑肌细胞表型转化改善血管重塑的作用机制研究 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2023, 39(14): 2033-2038.
GU J, HE W H, ZHANG Y Y, et al. Mechanism of celastrol on alleviating the vascular remodeling by modulating phenotypic transformation of vascular smooth muscle cells [J]. *Chin J Clin Pharmacol*, 2023, 39(14): 2033-2038.
- [24] 高艳香, 郑金刚, 孔炜. 基质微环境和血管稳态 [J]. *中国科学: 生命科学*, 2022, 52(5): 671-681.
GAO Y X, ZHENG J G, KONG W. Extracellular matrix microenvironment and vascular homeostasis [J]. *Sci Sin Vitae*, 2022, 52(5): 671-681.
- [25] 杨峰, 赵骞, 张世轩, 等. 雷帕霉素联合 CD133 抗体支架预防血管再狭窄的有效性和安全性 [J]. *中国组织工程研究*, 2022, 26(4): 579-584.
YANG F, ZHAO Q, ZHANG S X, et al. Effectiveness and safety of rapamycin combined with CD133 antibody stent in preventing vascular restenosis [J]. *Chin J Tissue Eng Res*, 2022, 26(4): 579-584.
- [26] 林爱龙, 马廉亭, 李俊, 等. 猪颈动脉粥样硬化性狭窄模型的建立 [J]. *中华实验外科杂志*, 2007, 24(7): 881-882.
LIN A L, MA L T, LI J, et al. Establishment of pig model of carotid atherosclerotic stenosis [J]. *Chin J Exp Surg*, 2007, 24(7): 881-882.
- [27] 徐雁云, 潘永明, 黄俊杰, 等. 西藏小型猪颈动脉粥样硬化模型的建立及评价研究 [J]. *中国实验动物学报*, 2023, 31(3): 287-295.
XU Y Y, PAN Y M, HUANG J J, et al. Establishment and disease characteristics of a carotid atherosclerosis model in Tibet mini-pigs [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2023, 31(3): 287-295.
- [28] 杨钦钦, 马全鑫, 奚晓青, 等. 球囊损伤联合高脂及维生素 D3 致大鼠动脉粥样硬化的方法学优化 [J]. *中国比较医学杂志*, 2015, 25(1): 35-39.
YANG Q Q, MA Q X, XI X Q, et al. Methodological research of establishing atherosclerosis model with balloon injury plus high-fat diet and vitamin D3 in rats [J]. *Chin J Comp Med*, 2015, 25(1): 35-39.
- [29] DEMIRTAS K. Inflammation and in-stent restenosis [J]. *Angiology*, 2018, 69(1): 89.
- [30] XU X, ZHANG D D, KONG P, et al. Sox10 escalates vascular inflammation by mediating vascular smooth muscle cell transdifferentiation and pyroptosis in neointimal hyperplasia [J]. *Cell Rep*, 2023, 42(8): 112869.

[收稿日期]2024-08-26